

学位授与番号	甲第 1766 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 22 日
氏 名	田中 聖之
学位論文題目	ゼブラフィッシュプルブリン遺伝子クローニングと視神経再生網膜における発現

論文審査委員	主 査	教 授	加藤 聖
	副 査	教 授	東田 陽博
			杉山 和久

内容の要旨及び審査の結果の要旨

魚類の中樞神経系(CNS)ニューロンの軸索は損傷後も再生し、機能も回復することが知られている。以前、我々は金魚視神経再生初期過程において発現が増加する分子として、レチノール結合タンパク質であるプルブリン cDNA をクローニングし、視神経再生におけるトリガー分子の可能性を見出した。本研究では、この分子がゼブラフィッシュにおいても同様であるか否かを精査し、更にプルブリン遺伝子の、より詳細な分子メカニズムの解明のため、ゼブラフィッシュプルブリン mRNA とタンパク質の発現レベルと時期を調べると共にゲノミック DNA ライブラリーからゼブラフィッシュプルブリン遺伝子のクローニングを行なった。その結果は以下のように要約される。

1. 金魚のプルブリンとアミノ酸レベルで 94%、ヌクレオチドレベルで 90%の相同性を示す cDNA クローン(retinol binding protein-4 like mRNA, BC059516)をゼブラフィッシュのプルブリン cDNA ホモログとして初めて同定した。
2. プルブリン mRNA の発現量は、視神経切断後 3 日目でコントロールと比較して約 3.2 倍に増加し、10 日ではほぼ正常レベルに戻った。また、その発現は視細胞に局限していた。
3. プルブリンタンパク質の発現量は視神経切断後 3 日でコントロールと比較して約 1.8 倍に増加し、10 日ではほぼ正常レベルに戻った。免疫活性は切断後 3 日目では外顆粒層で弱く、神経節細胞層で強く見られた。
4. 視神経切断後のゼブラフィッシュ網膜におけるプルブリン mRNA とタンパク質の発現時期は、金魚のそれと比較して 1-2 日早かった。
5. ゼブラフィッシュゲノミックライブラリーから 2.3 kbp の転写領域と 1.9 kbp の 5'上流領域を含む計 4.2 kbp の DNA ヌクレオチド断片をクローニングできた。転写領域部位には 6 つのエクソンと 5 つのイントロンから構成され、5'上流領域には網膜特異的なオブシン遺伝子の 5'上流に存在が知られている様々な転写調節因子の結合サイトが存在した。

プルブリンのゲノミック DNA 情報は魚類の CNS 再生開始遺伝子の転写調節因子を見つける上で必須の情報になる可能性を示唆した。

プルブリン遺伝子のクローニングを初めて行なった本研究は、今後の CNS 再生の分子メカニズム解明に大きく寄与する労作であると評価された。